

超高效液相色谱 - 串联质谱法测定牛肉中抗球虫药盐霉素残留量

LCMSMS-745

摘要：使用岛津三重四极杆液质联用系统建立了测定牛肉中抗球虫药盐霉素残留量的方法。盐霉素在优化后的色谱及质谱条件下，采用正离子模式进行电离，通过多反应监测 (MRM) 模式进行测定。结果表明：使用外标法定量，盐霉素在 0.075 ng/mL~25 ng/mL 浓度范围内峰面积与其质量浓度线性关系良好，所得校准曲线线性相关系数在 0.999 以上，各校准点准确度在 97.6%~104.1% 之间，且精密度和回收率实验结果良好。

关键词：牛肉 抗球虫药 盐霉素 三重四极杆质谱

技术特点：

- ❖ 样品前处理操作简单，适合高通量分析。
- ❖ 盐霉素分析干扰小、灵敏度高，盐霉素检出限值为 0.025 µg/L，优于标准要求。

盐霉素 (salinomycin) 属于聚醚类一元羧酸，由白色链霉菌发酵产生，具有特殊的环状结构，是典型的离子载体抗生素，它对细胞中的阳离子有较强的亲和力，通过影响细胞内外离子的传递从而起到杀菌的作用，常用于防治畜禽的球虫病。近年来，一些畜牧业主为了追求高效益而大量使用抗生素，甚至在休药期还滥用抗生素，非法使用违禁药物导致食品中抗生素残留超标的现象越来越多，严重影响了自然环境和人类身体健康。我国食品安全标准《GB 31650-2019 食品中兽药最大残留限量》中明确规定盐霉素在鸡肉中的最大残留限量为 600 µg/kg。

当前，对于动物组织中盐霉素残留量的分析方法多为高效液相色谱柱后衍生化法、柱前衍生化法、液相色谱-质谱法、微生物法和分光光度法等。食品安全检测工作正面临样品基质复杂，样本数量大和检出限要求低等诸多挑战。高效液相色谱 - 串联质谱 (LC-MS/MS) 法由于具有灵敏度高、特异性强和结果准确性好的特点，已成为食品中痕量物质分析的主要方法。本文基于岛津超高效液相色谱 - 三重四极杆质谱联用技术，建立了测定牛肉中盐霉素残留量的方法。该方法样品前处理过程简单、快速，且准确度高，可用于牛肉中盐霉素残留量的快速测定，供相关从业人员参考使用。

■ 实验部分

1.1 仪器

岛津 LCMS-8045 三重四极杆液质联用系统。具体配置为：

系统控制器：	CBM-20A	脱气机：	DGU-20A _{5R}
输液泵：	LC-30AD×2	自动进样器：	SIL-30AC
柱温箱：	CTO-20AC	检测器：	LCMS-8045
色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.113		

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱：	Shim-pack Velox C18 (100 mm×2.1 mm I.D., 1.8 µm, 岛津(上海)实验器材有限公司, P/N: 227-32007-03)
流动相：	0.1% 甲酸水溶液 +0.1% 甲酸乙腈 (3+97; v/v)
流速：	0.3 mL/min
进样体积：	2 µL
柱温：	35°C
洗脱方式：	等度洗脱

质谱条件

离子化模式：ESI +	接口温度：350°C
接口电压：4.0 kV	DL 温度：250°C
雾化气流速：氮气 3.0 L/min	加热块温度：400°C
加热气流速：空气 10 L/min	驻留时间：200 ms
干燥气流速：氮气 10 L/min	扫描模式：多反应监测 (MRM)
碰撞气：氩气 270 kPa	MRM 参数 见表 1

表 2 MRM 参数

化合物	英文名称	CAS No.	监测离子对	Q1 pre (V)	CE	Q3 Pre (V)
盐霉素	Salinomycin	53003-10-4	773.5> 431.25 *	-22.0	-55.0	-32.0
			773.5> 531.40	-22.0	-47.0	-10.0

注：* 表示定量离子对

1.3 样品前处理方法

取试样 5 g (精确至 ±0.05 g)，于 50 mL 离心管中，加入无水硫酸钠 5 g 后再准确加入乙腈 10 mL，涡旋混合 1 min，振荡 10 min，5000 r/min 离心 3 min，收集上清液。残渣中再加入乙腈 10 mL，同样步骤提取 1 次，合并上清液，过 0.22 μm 滤膜，供液相色谱 - 串联质谱测定。

1.4 基质校准曲线的制备

取系列标准溶液各 50 μL，用空白基质溶液稀释至 1.0 mL，得浓度为 0.075、0.25、1.0、2.5、10 和 25 μg/L 的系列基质匹配标准溶液，供液相色谱 - 串联质谱仪测定。以定量特征离子质量色谱峰面积为纵坐标，基质匹配标准溶液浓度为横坐标，绘制校准曲线。

■ 结果与讨论

2.1 标准样品的 MRM 色谱图

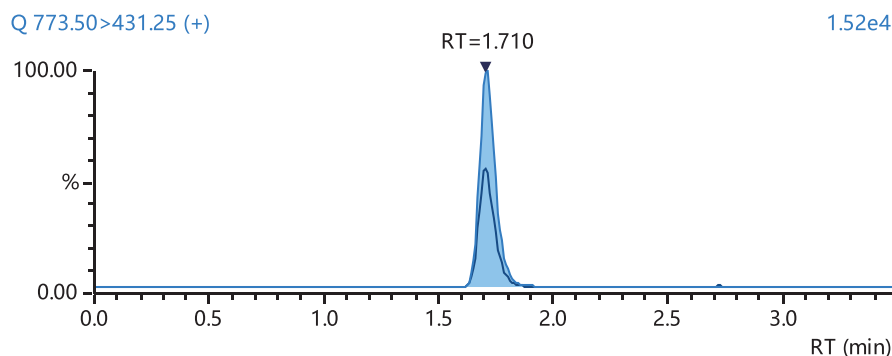


图 1 盐霉素 (1.0 μg/L) 的 MRM 图谱

2.2 线性范围与检出限

将 0.075、0.25、1.0、2.5、10 和 25 μg/L 不同浓度的盐霉素基质匹配标准工作液，按照 1.2 中的分析条件进行测定，使用外标法定量。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线如图 2 所示。所得校准曲线线性回归方程为 $Y = 70073.8X + 446.4$ ，且线性关系良好 (R 值大于 0.999)，各校准点准确度在 97.6%~104.1% 之间。以信噪比 (S/N=3) 计算检出限，所得盐霉素检出限值为 0.025 μg/L。

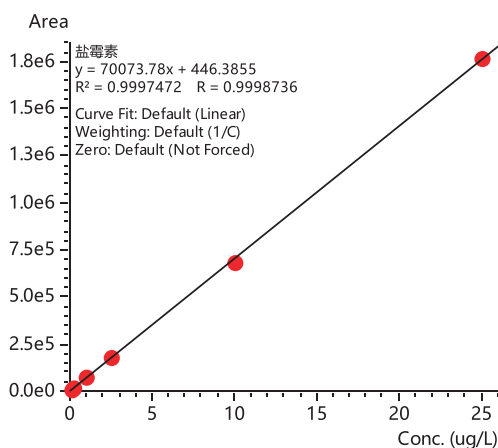


图 2 盐霉素的校准曲线

2.3 精密度实验

对不同浓度的盐霉素基质标准工作溶液连续测定 6 次，考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 2 所示。结果显示：不同浓度样品溶液中盐霉素的保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.04%~0.16% 和 1.02%~3.29% 之间，显示仪器精密度良好。

表 2 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

化合物	Conc.($\mu\text{g/L}$)	RSD% (R.T.)	RSD% (Area)
盐霉素	0.25	0.16	3.29
	1.0	0.04	1.43
	2.5	0.06	1.02

2.4 加标回收率实验

准确称取 5 g (准确至 ± 0.02 g) 空白试样，加入少量盐霉素的标准储备溶液，使得盐霉素的加标浓度分别为 5 $\mu\text{g/kg}$ 、10 $\mu\text{g/kg}$ 和 20 $\mu\text{g/kg}$ 。加标样品经过 1.3 样品前处理操作后，测得盐霉素的加标回收率在 92.4%~100.5% 之间，加标回收率结果见表 3。

表 3 盐霉素的加标回收率结果 (n=3)

化合物	加标水平 ($\mu\text{g/kg}$)	平均回收率 (%)
盐霉素	5	93.2
	10	92.4
	20	100.5

■ 结论

本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用测定牛肉中抗球虫药盐霉素残留量的方法。该方法样品前处理过程操作简单，分析时间短，能够实现高通量的样品分析。方法学研究结果表明，该方法灵敏度高、精密度好，且结果准确，可用于牛肉中盐霉素残留的快速筛查和定量分析。

岛津应用云

